

伪稻蝗及其近缘属的细胞学分类

马 恩 波 郭 亚 平

(山西大学生物系 太原 030006)

摘要 本文采用染色体 C 带核型和银染核仁组成区定位分析方法对我国分布的伪稻蝗属 (*Pseudoxya*)、稻蝗属 (*Oxya*) 和卵翅蝗属 (*Caryanda*) 进行了细胞学水平的系统分类研究。结果表明,作为近缘属,此三属在常规核型和 C 带标志性带纹分布方面显示出一些共同特点,表明其相互近缘的共性,然而在 C 带带纹分布型式及核仁组成区定位方面各有其特点,差异明显,这又是其属间相互独立的个性所在。由此,本文探讨了此三属之间细胞水平的分类学关系及该技术在细胞学分类学研究中的应用意义。

关键词 伪稻蝗属,稻蝗属,卵翅蝗属,染色体带型,细胞分类学

蝗虫染色体研究对于阐明其分类单元之间的亲缘关系和系统演化路线具有重要的意义。研究的早期阶段多以核型分析为主^[1-4]。但由于蝗虫染色体数目、形态在同一分类阶元内较为一致^[5],使得常规染色体核型分析指标在细胞学水平的分类研究应用中受到一定程度的限制。随着 60 年代末染色体分带等新技术的兴起,蝗虫染色体研究已深入到新的层次,较为普遍采用的是 C 带和银染核仁组成区(简称 NOR)定位等染色体带型分析方法。

C 带显示染色体上结构异染色质区域,从遗传机能上讲,该区域由高度重复 DNA 序列构成,是具惰性并较为恒定的。通过测定和比较染色体组内 C 带异染色质分布位置、大小、数量及异染色质总含量等项指标可以反映出属、种及种下阶元的细胞学异同;有助于比较其亲缘关系。

综观大量蝗虫染色体 C 带研究文献,见诸于不同层次的内容:有的是对一科内数属及一属内数种进行比较以显示其属、种分类阶元内的异同^[6],有的是对一较大分类单元内不同种或亚种进行比较分析,以显示其种及种下阶元的差异^[7],还有的研究已深入到种群间亲缘关系的研究领域^[8],特别是对于杂交带的种群细胞遗传学分析^[9-11],更是目前较为活跃的一个研究课题。

在蝗虫中,银染技术多用于初级精母细胞减数分裂前期阶段染色体的观察分析。NOR 在属内通常显示定位点及活性方面的恒定特点,在不同属间则有一定差异存在,这样使得 NOR 成为在较高级阶元中分析种系发生路线的一项有用指标^[12]。

本文采用染色体 C 带核型及银染 NOR 方法研究了我国分布的伪稻蝗属 *Pseudoxya*、稻蝗属 *Oxya* 及卵翅蝗属 *Caryanda* 部分种类,以求从染色体带型水平上进行分类学研究,以探讨其相互间细胞水平的异同性及其亲缘关系。

1 材料和方法

本文所研究的蝗虫均由野外采得(见表1)。所用材料为精巢。预处理过程为: 雄性个体活体注射 0.05% 浓度秋水仙素(每个体 4—6 μ l), 经 6—8 h 后取出精巢, 浸入固定

表 1 本文研究的蝗虫种类情况表

属 名	种 名	采集日期 (年·月·日)	采集地点	研究个体数
伪稻蝗属 <i>Pseudoxys</i> Yin et Liu	赤胫伪稻蝗 <i>P. diminuta</i> (Walk.)	1990.8.15	云南勐仑	12
稻蝗属 <i>Oxya</i> Audinet-Serville	小 稻 蝗 <i>O. hyla intricata</i> (Stål)	1990.8.20	云南勐仑	20
	山 稻 蝗 <i>O. agavis</i> Tsai	1990.9.10	四川宜宾	30
	中华稻蝗 <i>O. chinensis</i> (Thunberg)	1988.8.17	河北昌黎	28
	上海稻蝗 <i>O. shanghaiensis</i> Willemse	1990.9.30	陕西西安	30
	无齿稻蝗 <i>O. adentata</i> Willemse	1986.8.22	甘肃张掖	25
卵翅蝗属 <i>Coryanda</i> Stål	云南卵翅蝗 <i>C. yunnana</i> Zheng	1990.8.20	云南勐腊	4
	小卵翅蝗 <i>C. elegans</i> Bol. I.	1990.8.15	云南勐仑	21
	方板卵翅蝗 <i>C. quadrata</i> Bi et Xia	1985.8.13	云南保山	15
	黑纹卵翅蝗 <i>C. nigrovittata</i> Lian et Zheng	1985.10.5	四川马边	6
	绿卵翅蝗 <i>C. virida</i> sp. n.	1990.9.15	云南勐仑	5
	红股卵翅蝗 <i>C. rufiofemura</i> Ma et Zheng	1990.8.15	云南勐仑	2

表 2 三属代表种类染色体分析指标比较表

染色 体分 序号 组	赤胫伪稻蝗				分 组	中华稻蝗				分 组	方板卵翅蝗			
	染色体	着丝粒	居间带	端带相		染色体	着丝粒	居间带	端带相		染色体	着丝粒	居间带	端带相
	相对长 度%	带相对 长度%	相对长 度%	对长度 %		相对长 度%	带相对 长度%	相对长 度%	对长度 %		相对长 度%	带相对 长度%	相对长 度%	对长度 %
1 L	7.03	14.17			L	7.95	17.86		10.71	L	7.32	25.16		
2 L	6.50	7.21	12.61		L	7.61	19.40		23.13	L	6.90	10.00	14.67	
3 M	5.27	20.56			M	5.28	26.88			M	6.40	14.39	9.35	
4 M	4.54	21.94			M	4.37	27.27			M	5.43	20.34		
5 M	4.36	19.46			M	4.26	22.67			M	4.69	18.63		
6 M	4.04	23.19			M	3.86	35.29			M	3.77	24.39		
7 M	4.19	21.68			M	3.69	26.15			M	3.36	21.92		
8 M	3.43	26.50	14.53	13.68	M	3.29	29.31	20.69		M	2.67	34.48		
9 M	3.07	12.38			S	2.56	44.44			S	2.39	32.69		
10 S	2.58	26.14			S	2.39	40.48		28.57	S	2.16	34.04		
11 S	1.90 1.32	43.64			S	1.82	46.88			S	1.80	37.50		
X X	6.76	16.02			X	5.85	22.33			X	6.12	15.79		
C带块总数		29					31					27		

液(甲醇:冰醋酸为 3:1)内,经 8—12 h 后移入 70% 酒精内,置 4℃ 冰箱中保存备用。

C 带玻片标本制备:材料在 45% 冰醋酸液中压片,液氮冰冻揭片,室温下无尘处老化 2—3 天后,进行 BSG 法显带处理^[13,14]。

C 带玻片标本在显微镜下观察标记并进行显微照相(放大倍数为 670 倍),精原细胞有丝分裂中期分裂相经剪贴翻拍制成 C 带核型图版(见图 1),并经测量计算绘出带型示意图(见图 2),经计算机运算统计出有关数据(见表 2)。

银染玻片标本制备,参照施立明^[15]方法。先配制两种溶液: A 为 2% 白明胶水溶液 10ml,加入 0.1ml 甲酸; B 为 50% 硝酸银水溶液。取老化 2—3 天的染色体制片,滴加 A 液 2 滴、B 液 4 滴,加盖片,放培养皿中,置 60℃—70℃ 恒温箱内或恒温水浴锅上,约 2—5 min 后玻片材料呈棕黄色时,取出水洗、晾干、镜检。染色适中的玻片上可见染色体为黄色,核仁呈深棕色或黑色。封固后的玻片标本在显微镜下进行观察,选取减数分裂前期 I 粗线期或双线期分裂相,在大量观察分析基础上,确定核仁组成区所在染色体及具体位置,进行标记拍照。

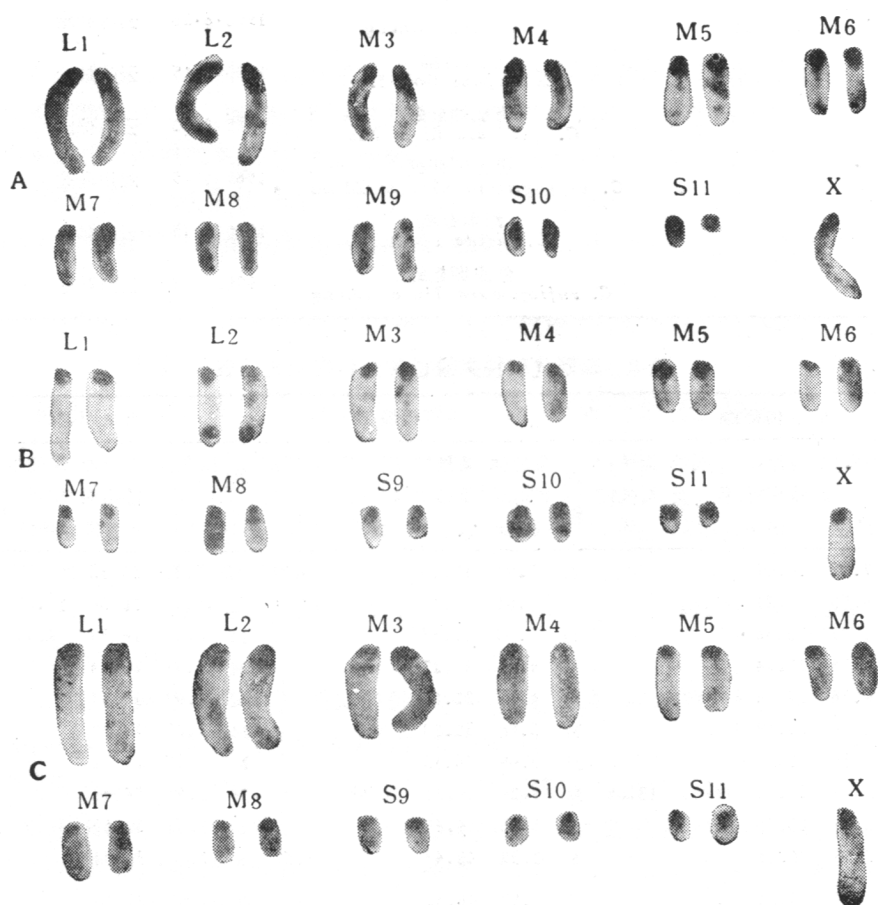


图 1 染色体 C 带核型

A. 赤胫伪稻蝗; B. 中华稻蝗; C. 方板卵翅蝗。

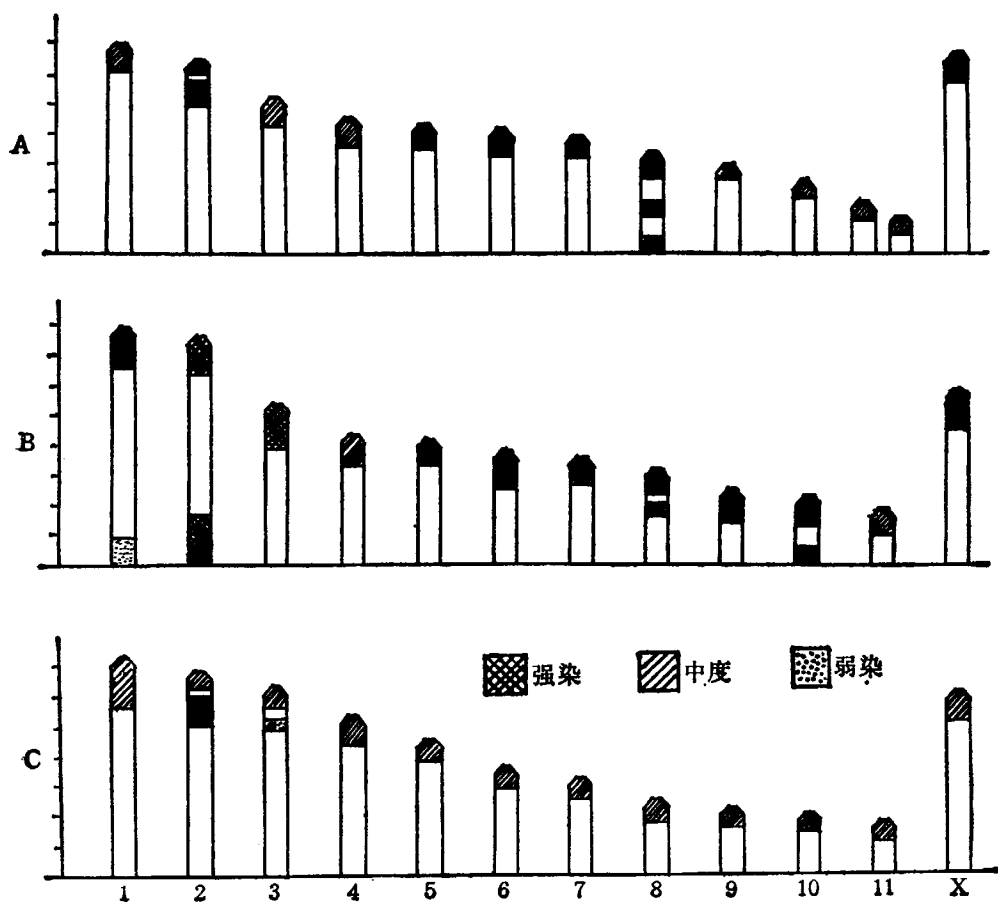


图2 C带核型示意图

A. 赤胫伪稻蝗; B. 中华稻蝗; C. 方板卵翅蝗。

纵坐标为染色体相对长度, 每小格为2%; 横坐标为染色体序号。

2 结果

2.1 伪稻蝗属 $2n$ 染色体核型数据表明, 该属 $2n\sigma = 23$, 性别决定机制为 XO 型。染色体依相对长度值可区分为四组: L1—2, 染色体相对长度值 (简称 RL 值) 7.03—6.50; M3—9, RL 值 5.27—3.07; S10—11, RL 值 2.58—1.32; X 染色体 RL 值 6.76, 居第二位。从 C 带带型来看, 各染色体着丝粒带着色不完全均一, 其中 M9 为弱染, M6、M7、M8 和 X 为强染, 其余为中度着色。从染色体带纹分布来看, 以 L2 与 M8 染色体为特殊。其中, L2 具一强染近着丝粒居间带, M8 具强染亚端带及一强染端带。该种 $2n$ C 带核型异染色质总含量为 22.46, Ag 带研究结果显示该种 NOR 定位于 M8 染色体居间区 (见图 1A、图 3A)。

2.2 稻蝗属 本文共研究了五种稻蝗 (见表 1)。染色体数目、性别决定机制同于上属。所有种类在 L2、M8、S10 染色体上往往具有特殊的 C 带带纹, 构成该属 C 带标记性染色体。其中, L2 染色体上 C 带纹分布位置及带纹大小强弱在不同种间具有差异。现以中华稻蝗为例: 该种染色体分组型式为: L1—2, RL 值 7.95—7.61; M3—8, RL 值 5.28—

3.29; S9—11, RL 值 2.56—1.82; X 染色体 RL 值 5.85, 居第三位。C 带带型显示出除着丝粒带存在于所有染色体外, L1 染色体具一弱染端带, L2 染色体具一强染端带, M8 染色体上具一弱染近着丝粒居间带, S10 染色体上具弱染端带。该种异染色质总含量为 34.70。Ag 带结果显示稻蝗属所研究的五种内 NOR 均定位于 M8 染色体近着丝粒区及 S10 染色体居间区(见图 1B、图 3B)。

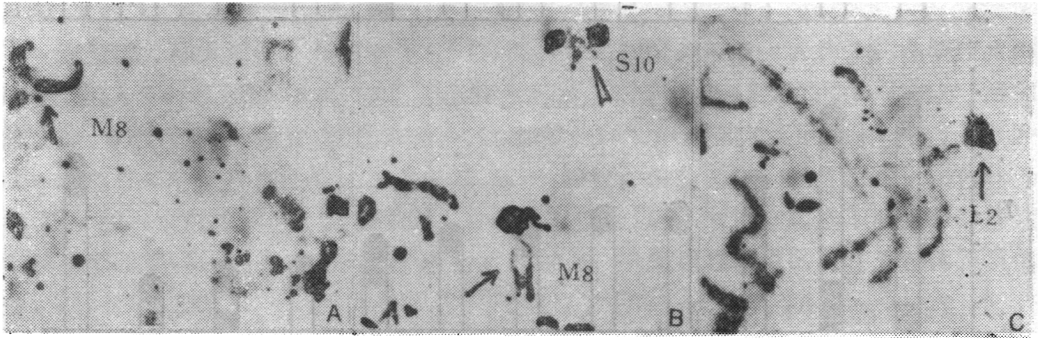


图 3 银染核仁组织者区域定位

A. 赤胫伪稻蝗; B. 中华稻蝗; C. 方板卵翅蝗。

2.3 卵翅蝗属 本文共研究了六种卵翅蝗(见表 1)。种间常规核型特点基本相似。染色体数目为 $2n\sigma = 23$, 性别决定机制为 XO 型。经 C 带处理发现所有种类 L2 染色体均具有近着丝粒居间带, 构成该属 C 带标记性带纹。但种间在其余染色体带纹分布方面亦有差别。现以方板卵翅蝗为例予以说明: 该种染色体可分为四组: L1—2, RL 值 7.32—6.90; M3—8, RL 值 6.40—2.67; S9—11, RL 值 2.39—1.84; X 染色体 RL 值 6.12, 居第四位。C 带带型表明, 全部着丝粒带均为中度着色。其中以 L1 染色体着丝粒带为大, L2 染色体上具强染近着丝粒居间带, M3 染色体上具弱染近着丝粒居间带。C 带带型上这些特点也反映在减数分裂各期分裂相中。Ag 带显示该种 NOR 定位于 L2 染色体近着丝粒区(见图 1C、图 3C)。

3 讨论

赤胫伪稻蝗的归属问题, 自建立以来有过多次变动。1910 年曾有学者将其归入稻蝗属中, Hollis^[16] 年根据其相似于卵翅蝗的若干特点, 将其归入卵翅蝗属中。印象初等^[17] 根据其本身形态特点将其独立为一属。从形态上来看, 赤胫伪稻蝗在前胸背板形态、翅及发音器、腹部末节尾片有无及阳茎基背片形状等分类性状上确实显示出亦此亦彼的特点。

从染色体常规核型来看, 此三属染色体数目相同 ($2n\sigma = 23$), 性别决定机制一致 (XO 型), 染色体着丝粒位置相同 (全部为近端着丝粒染色体), 染色体 C 带核型分析显示, 这三个属在 L2 染色体上除具着丝粒带而外, 还具有—附加带纹。其中在伪稻蝗属和卵翅蝗属中, 该染色体均具有近着丝粒居间带, 而且均为强染; 在稻蝗属内 L2 染色体附加带纹位置多变, 其中, 中华稻蝗、上海稻蝗、无齿稻蝗三种均为端带, 而小稻蝗为近着丝粒居间带, 山稻蝗为亚中部居间带。

除上述三属染色体常规核型和 C 带带型方面的共性而外, 此三个属同时具有各自独

特的C带带纹结构。其中,在伪稻蝗属中,M8染色体具一强染亚端带及一强染端带;在稻蝗属中,大部分种类M8染色体具近着丝粒居间带,S10染色体具端带;卵翅蝗属在3—9染色体上带纹数目及位置在不同种间各有特点,此外,该三属异染色质含量也有明显差异。

从NOR定位情况来看,伪稻蝗属NOR定位于M8染色体居间区;稻蝗属NOR定位于M8染色体近着丝粒处和S10染色体居间区;卵翅蝗属NOR定位于L2染色体近着丝粒区,构成各自特点(见表3)。

表3 三属代表种类NOR定位分布比较表

分类单元名称		染色体数目	NOR 定位分布情况		
属 名	种 名		近着丝粒区	居间区	末端区
伪稻蝗属	赤胫伪稻蝗	23		M8	
稻蝗属	中华稻蝗	23	M8	S10	
卵翅蝗属	方板卵翅蝗	23	L2		

综上所述,伪稻蝗属、稻蝗属和卵翅蝗属相互近缘及其差异不仅表现在常规形态分类特征方面,同时也从染色体C带核型及银染核仁组成区定位等指标反映出来。这是属级进化在细胞遗传学上的体现。本文从染色体指标的异同性两方面进行了比较分析,为伪稻蝗属的独立提供了细胞学证据。

作为细胞分类学指标,染色体C带核型和银染核仁组成区定位可以从不同层次上反映其生物类群间的分类关系。染色体C带在同一属内有一明显而恒定的C带结构模式,往往构成“标志性C带带纹”,同时NOR定位分布也有其特点,由此可以进行属级分类单元的比较。而染色体C带带纹分布数量、位置、着色程度等变化情况又可以反映其种间差异,据此可进行种间关系的对比。

参 考 文 献

- 1 Carothers, E. E. The segregation and recombination of homologous chromosomes as found in two genera of Acrididae (Orthoptera). *J. Morph.* 1917, 28:445—521.
- 2 Helwing, E. R. Chromosomal variations correlated with geographical distribution in *Circosettix verruculatus* (Orthoptera). *J. Morph.* 1929, 47:1—36.
- 3 Sutton, W. S. The spermatogonial divisions in *Brachystola magna*. Kanasa Univ. 1899, Vol. 9: 135—160.
- 4 Sutton, W. S. On the morphology of the chromosome group in *Brachystola magna*. *Biol. Bull.* 1902, 4(1):24—39.
- 5 White, M. J. D. Animal cytology and evolution (third edition). Cambridge University Press. Cambridge. 1973.
- 6 Max, K., Bernard J. Regularities and restrictions governing C-band variation in Acridoid grasshoppers. *Chromosoma* (Berl). 1980, 76:123—150.
- 7 Santos, J. L. *et al.* Chromosome C-banding patterns in Spanish Acridoidea. *Genetica*. 1983, 61: 65—74.
- 8 Santos, J. L., *et al.* C-heterochromatin polymorphism and variation in chiasma localization in *Euchorhippus pulvinatus fallicus* (Acrididae, Orth.). *Chromosoma* (Berl). 1982, 85:507—518.
- 9 Hewitt, G. M., *et al.* Animal cytogenetics. 3. Insecta 1): Orthoptera, Grasshoppers and Crickets Gebruder Borntraeger. 1979, 1—170.
- 10 Hewitt, G. M., *et al.* Differences in the nucleolar organisers on sex chromosomes and Haldane's Rule in a hybrid zone. Kew Chromosome Conference III. HMSO. 1988, 109—119.

- 11 Hewitt, G. M. Sperm precedence and homogamy across a hybrid zone in the alpine grasshopper *Podisma pedestris*. *Heredity*, 1989, 62:343—353.
- 12 Camacho, J. P., *et al.* Cytological markers for analysing evolutionary relationships between related species of Orthopteroids In: Baccetti, B. (ed.) *Evolutionary Biology of Orthopteroid Insects*. Ellis Horwood, Chichester, 1987, 148—156.
- 13 Webb, G. C. chromosome organisation in the Australian plague locust *Chortoicetes terminifera*. *Chromosoma* (Berl), 1976, 55:229—246.
- 14 马恩波, 郑哲民. 五种稻蝗染色体核型和C带带型的比较. *昆虫学报*, 1989, 32(4): 399—405.
- 15 施立明. 银染方法及其在细胞遗传学中的应用. *遗传*, 1980, 2(4): 29—32.
- 16 Hollis, D. A revision of the subfamily Oxyinea (Orth. Acridoidea). *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Ent.* 1975, 31:191—234.
- 17 印象初, 刘志伟. 中国斑腿蝗一新亚种及一新属新种记述. *动物分类学报*, 1987, 12(1): 66—72.

THE CYTOTAXONOMY OF *PSEUDOXYA* AND ITS RELATIVE GENERA

MA ENBO GUO YAPING

(Department of Biology, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Abstract This paper deals with the cytotaxonomy of genera *Pseudoxya*, *Oxya* and *Caryanda* studied by C-banding and Ag-banding methods. The results show that these three genera have some common feature in the C-band distribution and conventional karyotype, indicating their close relationship. However, there are still some differences among the three genera in C-band distribution and NOR localization, showing their specialised aspects. the cytotaxonomic relationship among them and the taxonomic significance of chromosomal banding methods are discussed.

Key words *Pseudoxya*, *Oxya*, *Caryanda*, chromosomal banding, cytotaxonomy